# This Page Is Inserted by IFW Operations and is not a part of the Official Record

# **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

# IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning documents will not correct images, please do not report the images to the Image Problems Mailbox.

# BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND





# Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

RECEIVED

Aktenzeichen:

198 40 875.7

OCT 1 7 2000

Anmeldetag:

1. September 1998

OFFICE OF PETITIONS **DEPUTY A/C PATENTS** 

Anmelder/Inhaber:

Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin,

Berlin/DE

Bezeichnung:

Mittel zur Diagnose und zur Therapie von

Tumorerkrankungen

Priorität:

02.09.1997 DE 197 38 205.3

IPC:

C 07 K, A 61 K, C 07 H

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

> München, den 8. August 2000 **Deutsches Patent- und Markenamt** Der Präsident

Im Auftrag

A 9161

09/587574

Mittel zur Diagnose und zur Therapie von Tumorerkrankungen

#### Beschreibung

Die Erfindung betrifft neue Wege zur Bekämpfung von Tumorerkrankungen durch Ausnutzung molekularbiologischer Zusammenhänge bei der Tumorentstehung. Sie betrifft im einzelnen ein Mittel zur Diagnose von Tumorerkrankungen, und darauf aufbauend ein Mittel zur Therapie. Sie betrifft ferner das neue Protein Conductin, seine Mutanten und Varianten sowie Teile davon, die dazu analogen cDNA-Sequenzen und deren Verwendung in gentherapeutischen und pharmakologischen Verfahren.

Anwendungsgebiete der Erfindung sind die Medizin und die pharmazeutische Industrie.

Cadherine und Catenine bilden Zelladhäsionskomplexe, die in zahlreichen Geweben für die Anheftung der Zellen aneinander verantwortlich sind. Die Cadherine sind Transmembranproteine und stellen den direkten Kontakt zwischen benachbarten Zellen her. - $\alpha$ ,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Catenin sind zytoplasmatische Komponenten, die die Cadherine mit dem Aktin-Zytoskelett verbinden. Neben haben Catenine auch Funktion bei der Zelladhäsion entscheidende Rolle bei Signaltransduktionsprozessen. b-Catenin in Vertebraten und das homologe Segmentpolaritäts-Genprodukt Armadillo in Drosphila werden durch den Wnt/Wingless-Signalweg stabilisiert (Nusse, R., Cell 89, 321-323, 1997). Dies führt zu Erhöhung der zytoplasmatischen, nicht an Cadherin gebundenen Fraktion dieser Proteine, die daraufhin mit HMG-Transkriptionsfaktoren der LEF-1/TCF-Familie wechselwirken können. Als Resultat wird 8-Catenin/Armadillo in den Zellkern transportiert, wo es zusammen mit den LEF/TCF-Proteinen an DNA bindet und bestimmte Gene aktiviert (Behrens, J. et. al., Nature 382, 638-642, 1996).

Dieser Signalweg spielt auch eine Rolle bei der Tumorentstehung. In Kolonepithelzellen wird der zytoplasmatische Pool von B- Catenin durch das Tumorsuppressor-Genprodukt APC (Adenomatosis Polyposis Coli) streng reguliert. Mutationen von APC, wie sie in etwa 80% aller Kolonkarzinome auftreten, führen zu verkürzten Formen des APC Proteins, die nicht mehr in der Lage sind ß-Catenin zu destabilisieren. Dadurch findet man in diesen Tumoren permanente Komplexe von ß-Catenin mit dem HMG-Transkriptionsfaktor TCF-4, welche für die Transformation der Zellen verantwortlich gemacht werden. Diese Theorie wird gestützt durch den kürzlichen Befund, daß in Tumoren, in denen APC nicht verändert ist, Mutationen von ß-Catenin auftreten. Diese führen ebenfalls zur zytoplasmatischen Stabilisierung von ß-Catenin und zur Assoziation mit LEF-1/TCF-Faktoren (Morin, P.J. et. al., Science 275, 1787-1790).

Die Erfindung hat das Ziel, einen neuen Weg zur Verhinderung der Tumorentstehung zu finden. Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur Kontrolle der Regulation von ß-Catenin in Körperzellen zu entwickeln.

Gegenstand der Erfindung ist ein neues Protein, welches an B-Catenin bindet und zu dessem zytoplasmatischen Abbau führt. Dieses Protein hat die Aminosäuresequenz gemäß Abb. 1 und wurde als CONDUCTIN bezeichnet.

Das Erfindung beruht nun auf der eigenen Erkenntnis, daß Conductin über eine B-Catenin-Bindungsdomäne an B-Catenin, über eine GSK 3B-Bindungsdomäne an GSK 3B und über eine sogenannte RGS-Domäne (Regulator of G-Protein Signalling) an APC-Fragmente bindet. Dadurch kommt es zum zytoplasmatischen Abbau von B-Catenin und in Vertebraten zur Blockade des Wnt/Wingless-Signalwegs. Damit ist klar, daß Conductin ein wichtiger Regulator der B-Catenin-Funktion ist und im Zusammenspiel mit APC zur Tumorsuppression beiträgt.

Davon abgeleitet betrifft die Erfindung ein Mittel zur Diagnose von Tumorerkrankungen, welches dadurch gekennzeichnet ist, daß das Vorhandensein und die Menge von Conductin, seiner Mutanten und Varianten oder seiner Teile in Körperzellen nachgewiesen

wird. Dieser Nachweis kann auf der Proteinebene mit spezifischen Antikörpern durchgeführt werden, speziell mit monoklonalen Antikörpern.

Die Diagnose von Tumorerkrankungen kann gemäß der Erfindung auch auf der Genebene erfolgen. Dazu werden mit ausgewählten Primern und cDNA-Sonden, die aus der Gensequenz des Conductins abgeleitet sind,

- das Gen, das für Conductin, seine Mutanten und Varianten oder Teile davon kodiert, bzw.
- mRNA-Sequenzen, die von diesen Genen abgelesen werden, nachgewiesen.

Das erfindungsgemäße Mittel zur Therapie von Tumorerkrankungen enthält Substanzen, die die Wirkung des Conductins im Körper aktivieren/reaktivieren. Das sind vor allem Mittel, die den Genpromoter des Conductins aktivieren bzw. Mittel, die die Stabilität der von den Conductin-Genen abgeleiteten m-RNA-Sequenzen erhöht. Das Hauptziel aller dieser Mittel besteht erfindungsgemäß darin, die Aktivität des Conductins in den Körperzellen zu erhöhen. Dazu kommen u. a. kleinmolekulare Substanzen in Betracht, die z. B. durch High-Througput-Number-Screening gefunden werden.

Die Erfindung umfaßt auch gentherapeutische Mittel, enthaltend Gene, die für Conductin, seine Mutanten und Varianten oder Teile davon kodieren, bzw. mRNA-Sequenzen, die von diesen Genen abgelesen werden.

Unter Schutz gestellt wird ferner das neue Protein Conductin gemäß Abb. 1 - SEQ ID No. 1, seine Mutanten und Varianten sowi Teile davon. Besonders bevorzugte Teilsequenzen Aminosauren 78-200 (RGS) - SEQ ID No. 2, 343-396 (GSK 38-397-465 (B-Catenin-3, ID. No. SEQ Bindungsdomäne) 783-833 (Dishevelled ID No. 4 und Homologie-Region) - SEQ ID No. 5. Zum Schutzumfang gehören auch SEQ Poliposis des Adenomatosis Teilsequenzen

VON

gekennzeichnet durch die Aminosäuresequenzen 1464-1604, 1516-1595, 1690-1778 und 1995-2083 als RGS-Domanen-Interaktionsorte.

Gleichermaßen beansprucht werden die analogen cDNA-Sequenzen, insbesondere die volle cDNA-Sequenz des Conductins (Basenpaare 1-2825) gemäß Abb. 2 - SEQ ID No. 6 sowie die Teilsequenzen des Conductins der Nukleotidfolge 446-814 (RGS-Genabschnitt) - SEQ ID No. 7, der Nukleotidfolge 1241-1402 (Genabschnitt der GSK 3ß-Bindungsdomäne) - SEQ ID No. 8, 1403-1609 (Genabschnitt der ß-Catenin-Bindungsdomäne) - SEQ ID No. 9 und der Nukleotidfolge 2561-2713 (Genabschnitt der Dishevelled Homologie-Region) - SEQ ID No. 10.

Die Erfindung wird durch die folgenden Ausführungsbeispiele näher erläutert.

Conductin wurde durch einen Hefe 2-Hybrid Screen als ß-Catenin-Interaktionspartner identifiziert. Die vollständige cDNA-Sequenz wurde daraufhin isoliert und sequenziert. Die abgeleitete Aminosauresequenz von Conduction ist in Abb. 1 gezeigt, die Nukleotidsequenz in Abb. 2 und die Gegenüberstellung von Aminosaure- und Nukleotidsequenz in Abb. 3. Conductin besteht aus 840 Aminosäuren und hat ein Molekulargewicht von 92,8 kDa. Durch Sequenzvergleiche wurde im Conductin eine RGS-Domane Protein Dishevelled (Aminosäuren 78-200) und eine zu dem verwandte Domane (Aminosauren 783-833, Dishevelled Homologie-Region) identifiziert (Abb. 1-3). Die GSK 38- und 8-Catenin-Bindungsdomänen (Aminosäuren 343-396 bzw. 397-465) wurden durch Interaktionsstudien im 2-Hybrid-System entdeckt (Abb. zeigte sich, daß diese Domänen ausreichend und notwendig für die Bindung an GSK 3B bzw. B-Catenin sind (Abb. 4), wohingegen die RGS- und Dishevelled Homologie-Region nicht beteiligt sind. Die Wechselwirkung von Conductin mit GSK 3B bzw. B-Catenin wurde auch in Co-Immunpräzipitationsexperimenten biochemisch bewiesen.

Die Wirkung von Conductin auf B-Catenin wurde in SW480 Zellen untersucht. In diesen Zellen ist das Tumor-Suppressor-Genprodukt

5

APC mutiert, wodurch es zu einem Anstieg des cytoplasmatischen und vor allem nuklearen Gehalts von B-Catenin kommt. Einbringung von Conductin in diese Zellen führt einem zu Abbau von B-Catenin, wodurch die Zelle von drastischen B-Catenin und im Zellkern befindlichen cytoplasmatischem depletiert wird (Abb. 4). Diese Wirkung auf den Gehalt von B-Catenin ist gleich stark wie die von nichtmutiertem APC, woraus werden kann, daß Conductin ebenfalls Tumorsuppressor durch Regulation von B-Catenin wirkt. Es wurde außerdem gezeigt, daß Conductin den Wnt/Wingless-Signalweg auch in Xenopus-Embryonen durch seine Wirkung auf B-Catenin hemmt.

Es wurde außerdem festgestellt, daß Conductin mit APC direkt interagiert. APC-Fragmente von Aminosaure 1464-1604, 1516-1595, 1690-1778 und 1995-2083 wurden als Interaktionsstellen für Conductin identifiziert. In Conductin erfolgt die Bindung an APC über die RGS-Domäne; dieser Bereich ist ausreichend und notwendig für die Interaktion. Die anderen Domänen in Conductin sind nicht beteiligt (Abb. 4).

VON

#### Legende zu den Abbildungen:

#### Abb. 1:

## Aminosauresequenz von Conductin

Die Conductin cDNA kodiert ein Protein von 840 Aminosäuren mit einem berechneten Molekulargewicht von 92,8 kDa. Die RGS-Domäne (doppelt unterstrichen), die B-Catenin-Bindungsdomäne (einfach unterstrichen) und die Dishevelled Homologie-Region sind durch Fettdruck hervorgehoben.

#### Abb. 2

Nukleotidsequenz von Conductin von Position 1-2825

Die Sequenzbereiche sind analog zu Abb.1 markiert.

## Abb. 3 Gegenüberstellung von Aminosäure- und Nukleotidseguenz von Conductin

## Abb. 4 Analyse der Interaktion von Conductin und seinen Teilen mit B-Catenin, APC und GSK 3B

Conductin Protein und abgeleitete Teilstücke sind Das schematisch dargestellt. Hervorgehoben sind die RGS-Domane (RGS), die GSK 38-Bindungsdomäne (GSK BD) und die 8-Catenin-Bindungsstelle (B-BD). Die Interaktion mit B-Catenin mit den APC Fragmenten von Aminosäure 1464-1604 (APCfr.1) und 1516-1595 (APCfr. 2) und GSK 3ß wurde im Hefe 2-Hybrid Assay untersucht und als B-Galaktosidase Einheiten quantifiziert. Man erkennt, daß die Bindung an B-Catenin auf die B-Catenin-Bindungsstelle beschränkt ist, die anderen Teile des Proteins tragen dazu nicht bei. Die Analyse zeigt außerdem die ausschließliche Interaktion RGS-Domane von Conductin. Vergleichbare der APC mit von Ergebnisse für die Bindung an die RGS-Domane wurden mit APC Fragmenten von Aminosaure 1690-1778 und 1995-2083 erhalten. Der VON 9415381

PATENTST BIOTEZ 9415381 98 13:11

-

Abbau von ß-Catenin in SW480 Zellen durch Conductin wurde nach transienter Expression der angegebenen Proteine und Immunfluoreszenz-Färbung von ß-Catenin analysiert. Nur Teilstücke von Conductin, die an ß-Catenin binden, führen zu dessen Abbau. Die Analyse zeigt schließlich die Bindung von GSK 3ß an die GSK 3ß-Bindungsdomäne von Conductin.

8

### Patentansprüche

- 1. Mittel zur Diagnose von Tumoren, enthaltend eine Substanz, mit der
- Conductin, seine Mutanten und Varianten oder Teile davon bzw.
- Gene, die für Conductin, seine Mutanten und Varianten oder Teile davon kodieren, bzw.
- m-RNA-Sequenzen, die von diesen Genen abgelesen werden, nachgewiesen werden.
- 2. Mittel zur Diagnose von Tumoren nach Anspruch 1, enthaltend spezifische Antikörper gegen Conductin, seine Varianten oder Mutanten oder Teile davon.
  - 3. Mittel zur Diagnose von Tumoren nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß die spezifischen Antikörper monoklonale Antikörper sind.
  - 4. Mittel zur Diagnose von Tumoren nach Anspruch 1, enthaltend korrespondierende Oligonukleotid-Primer bzw. DNA-Sonden zum Nachweis der Gene und deren Mutationen.
  - 5. Mittel zur Diagnose von Tumoren nach Anspruch 1, enthaltend korrespondierende Oligonukleotid-Primer bzw. DNA-Sonden zum Nachweis der RNA-Sequenzen.
  - 6. Mittel zur Therapie von Tumoren, enthaltend eine Substanz, die die Wirkung des Conductins im Körper aktiviert/reaktiviert.
  - 7. Mittel nach Anspruch 6, enthaltend eine Substanz, die den Genpromoter des Conductins aktiviert.
  - 8. Mittel nach Anspruch 6, enthaltend eine Substanz, die die Stabilität der mRNA-Sequenzen erhöht.
  - 9. Mittel nach Anspruch 6, enthaltend eine Substanz, die die Aktivität des Conductins erhöht.

- 10. Conductin, seine Varianten und Mutanten sowie Teile davon.
- 11. Conductin nach Anspruch 10, gekennzeichnet durch die Aminosäuresequenz 1-840 gemäß Abb. 1 (SEQ ID No. 1), wobei Abb. 1 Bestandteil dieses Anspruchs ist.
- 12. Teilsequenz des Conductins nach Anspruch 10, gekennzeichnet durch die Aminosäuresequenz 78-200 (RGS-Domäne) der Abb. 1 (SEQ ID No. 2).
- 13. Teilsequenz des Conductins nach Anspruch 10, gekennzeichnet durch die Aminosäuresequenz 343-396 (GSK 3B) der Abb. 1 (SEQ ID No. 3).
- 14. Teilsequenz des Conductins nach Anspruch 10, gekennzeichnet durch die Aminosäuresequenz 397-465 (B-Catenin-Bindungsdomäne) der Abb. 1 (SEQ ID No. 4).
- 15. Teilsequenz des Conductins nach Anspruch 10, gekennzeichnet durch die Aminosäuresequenz 783-833 (Dishevelled Homologie-Region) der Abb. 1 (SEQ ID No 5).
- 16. Teilsequenzen des Adenomatosis Poliposis Coli (APC), gekennzeichnet durch die Aminosäuresequenzen 1464-1604, 1516-1595, 1690-1778 und 1995-2083 als RGS-Domänen-Interaktionsorte.
- 17. cDNA-Sequenz von Conductin, seiner Varianten oder Mutanten oder Teilen davon.
- 18. cDNA-Sequenz des Conductins der Nukleotidfolge 1-2825 der Abb. 2 (SEQ ID No. 6), wobei Abb. 2 Bestandteil dieses Anspruchs ist.
- 19. cDNA-Teilsequenz des Conductins der Nukleotidfolge 446-814 (RGS-Genabschnitt) der Abb. 2 (SEQ ID No. 7).

YON



10

- 20. cDNA-Teilsequenz des Conductins der Nukleotidfolge 1241-1402 (Genabschnitt der GSK 38-Bindungsdoman ) der Abb. 2 (SEQ ID No. 8).
- 21. cDNA-Teilsequenz des Conductins der Nukleotidfolge 1403-1609 (Genabschnitt der B-Catenin-Bindungsdomäne) der Abb. 2 (SEQ ID No. 9).
- 22. cDNA-Teilsequenz des Conductins der Nukleotidfolge 2561-2713 (Genabschnitt der Dishevelled Homologie-Region) der Abb. 2 (SEQ ID No. 10).
- für die Gentherapie Conductin-Gens Verwendung des daß ein Vektor mit Tumorerkrankungen, dadurch gekennzeichnet, dem Conductin-Gen konstruiert wird, anschließend ein Gentransfer in den menschlichen Körper erfolgt und damit die Aktivität des Conductins in Körperzellen wiederhergestellt wird.

#### Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft neue Wege zur Bekämpfung von Tumorerkrankungen durch Ausnutzung molekularbiologischer Zusammenhänge bei der Tumorentstehung.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur Kontrolle der Regulation von B-Catenin in Körperzellen zu entwickeln.

Gegenstand der Erfindung ist ein neues Protein, welches an B-Catenin bindet und zu dessem zytoplasmatischen Abbau führt. Dieses Protein hat die Aminosäuresequenz gemäß Abb. 1 und wurde als CONDUCTIN bezeichnet.

Vom Vorkommen und der Wirkung des Conductins in Körperzellen abgeleitet werden Mittel zur Diagnose und zur Therapie von Tumorerkrankungen entwickelt.



1/5

A THE STATE OF THE PROPERTY OF	60
MSSAVLVTLLPDPSSSFREDAPRPPVPGEEGETPPCQPSVGKVQSTKPMPVSSNARRNED GLGEPEGRASPDSPLTRWTKSLHSLLGDQDGAYLFRTFLEREKCVDTLDFWFACNGFRQM	.120
GLGEPEGRASPDSPLTRWTKSLESLIGDOUGHT TRUBCKER GERVARD GER	180
NLKOTKTLRVAKAIYKRYIENNSVVSKOLKFATKYZEN VMEENAYOVFLTSDIYLEYVRSGGENTAYMSNGGLGSLKVLCGYLPTLNEEEEWTCADLK VMEENAYOVFLTSDIYLEYVRSGGENTAYMSNGGLGSLKVLCGYLPTLNEEEEWTCADLK	240.
	300
VMEENAYQVFLTSDIYLEIV RSGGENTATIONS OF THE STATE OF THE ST	360
ELSSDALTDDSMSMTDSSVDGVPPYRMGSRRQDGREDEEKEGSEQALSSRDGAPVQ EMTPVEPAAFAAELISRLEKLKLELESRHSLEERLQQIREDEEKEGSEQALSSRDGAPVQ	420
EMTPVEPAAFAAELISRLEKLKIELESRASLEERIQUITOON HOLALIPSGSYEEDPQTILDDHLSRVLKTPGCQSPGVGRYSPRSRSPDHHHQHHHHQQCH HPIALLPSGSYEEDPQTILDDHLSRVLKTPGCQSPGVGRYSPRSRSPDHHHQHHHHQQCH	480
HPIALLPSGSYEEDPQTILDDHLSRVLKTPGCQSFGVGXTX TLLSTGGKLPPVAACPLLGGKSFLTKQTTKHVHHHYIHHHAVPKTKEEIEAEATQRVRCL TLLSTGGKLPPVAACPLLGGKSFLTKQTTKHVHHHYIHHHAVPKTKEEIEAEATQRVRCL	540
TLLSTGGKLPPVAACPLLGGKSFLTKOTTKHVHHHY I HHHAVFKTEDGLALSARDGGMSSA CPGGTDYYCYSKCKSHPKAPEPLPGEQFCGSRGGTLPKRNAKGTEPGLALSARDGGMSSA CPGGTDYYCYSKCKSHPKAPEPLPGEQFCGSRGGTLPKRNAKGTEPGLALSARDGGMSSA	600 660
CPGGTDYYCYSKCKSHPKAPEPLPGEQFCGSRGGTLPKRNAXOTLESARAAPGERVSRHHL AGGPQLPGEEGDRSQDVWQWMLESERQSKSKPHSAQSIRKSYPLESARAAPGERVSRHHL AGGPQLPGEEGDRSQDVWQWMLESERQSKSKPHSAQSIRKSYPLESARAAPGERVSRHHL	720
AGGPOLPGEEGDRSQDVWQWMLESERQSKSKPHSAQSIRKSIP DEUXERQKQRCCVASQQRD LGASGHSRSVARAHPFTQDPAMPPLTPPNTLAQLEEACRRLAEVSKPQKQRCCVASQQRD LGASGHSRSVARAHPFTQDPAMPPLTPPNTLAQLEEACRRLAEVSKPQKQRCCVASQQRD	780
LGASGHSRSVARAHPFTQDPAMPPLTPPNTLAQLEEACKRLAEVSKYZYZYZYZYZYZYZYZYZYZYZYZYZYZYZYZYZYZYZ	840
OSTALGHEKEOLSKKGNYRYYFKKASDEFACGAVELEINDDITT	



2/5

	CASCUSTICS: GLISGATT FOGGGGGCACCCGGGAGGCCGACGCGTCCGCCAAAGG	60
	CASCUSTICS WITGOATTICGOOK CARCACTCACATGAGCCCTGCTGACTTAAGAGAGACCA	120
	ACAGCTT TALTO I PARANI MONOCO CONTROL PARANI GA COA GA GA AAAA AA GA GA GA GA GA GA GA GA	. 180
	A SOCIO DE LA COMPAGNACIÓN DE CONTROL DE CON	240
	*CTTCCAOLTCCCAGCAGCAGCTTCCGCGAGGATGCTCCGCGGCCCCGGTTCCGCCAGA	300
	DESCRIPTION OF CHOOGISTCAUCCTAGTUIGGGCAAGGTCCAGTUCACULUMCULAN	360
٠.	WOLLD CONTROL OF THE TOTAL ACCUMANCE OF THE T	420
	TOOLS TO COMPANY TO CASE TOGACCAAGTCTTTACACTCCTIGTTGGGTGACCA	480
	GGATGGTGCATACCTCTTCCGGACTTTCCTGGAGACGCACAAATGTGTGGATACCCTGGA	540
	CTTCTGGTTTGCTTGTAATGGGTTCAGGCAGATGAACCTGAAGGATACCAAAACTTTGCG	600
	ACTGGCCAAAGCAATCTATAAGAGGTACATTGAGAACAACAGCGTTGTCTCCAAGCAGCT	650
	CAAGCCCGCCACCAAGACCTACATACGAGATGGCATCAAGAAGCAACAGATCGGCTCGGT	720
٠	CATGTTTGACCAGGCACACACCGAGATCCAGGCAGTGATGGAGGAAAATGCCTACCAGGT	780
	GTTCTTGACTTCTGGAATTTACCTGGAATATGTGAGGAGTGGGGGGGAAACACAGCTTA	840
	THE REPORT OF THE PROPERTY OF A STATE OF THE PROPERTY OF A	900
		960
		1020
		1080
		1140
	DE-MISSINGERGACAGTAGCGTAGATGCCTCC: TACCCATOCATOCATOCATOCATOCATOCATOCATOCATO	
	TINGING CONTROL OF THE PROPERTY OF THE PROPERT	1260
	ACCTCATTTTCCGACAACCCACCGCCTGCCCCAACGACATGACGCCTGTGGAACCTGCTGC	1320
	CTTCGCCCCCACCTCATCTCCAGGCTGGAGAAACTGAAACTGGAGCTGGAAAGCCGCCA	1380
	CIICGCGGGGG	
	TO THE TOTAL OF THE CONTROL OF THE PROPERTY OF	1440
	TACTOTCCAGGACCGCCTGCAGCAGCACCAGGACGACGAAGAAAAGGACGGGTCTCAGCA	1500
	TAGTCTGCAGGAGCGCCTGCAGCACCACCCCCTGGCCCTCCTACCACCCCCTGGCCCTCCTACCCTCCGC	
	TAGTCTGCAGGAGCAGCAGCAGCACCAGCAGGAGGATGAAGAAAAGGAGGGTCTGAGCAGGGGCTGCAGCAGCACCACCTCCAGCACCACCTCCAGGGTCCTCAAGACCACTTTTGGACGACCACCACCTCCCAGGGTCCTCAAGACCACTTTTTGGACGACCACCACCTCCCAGGGTCCTCAAGACCACCTCTCCAAGGGTCCTCAAGACCACTTTTT	1500
	TAGTCTGCAGGACCAGCAGCAGCACCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG	1500 1560
	TAGTCTGGAGGAGGGGTGCAGCAGATCCGGGAGGATGAAGAAAAGGAGGGGTCTAACAA GGCCTGAGCTCACGGAATCCAGCACCGGTCCAGCACCCCTGGCCTCCTACAGAC CAGCTATGAACACGACCACAAACCATTTTGGACGACCACCTCTCCACGGTCCTCAAGAC CCCCGGCTGTCAATCCCCTGGTGTGGCTGCTTCATACCCTTCTTTTCGACTGGGGGGCAAGCT	1500 1560 1620
	TAGTCTGGAGGAGGGCTGCAGCAGATCCGGGAGGATGAAGAAAAGAGGGGTCTGACCAGGGCCCTGGCCTGCCCTGCCCTGCCCTGCCCTGCCCTGCCCTGCCCTGCCCTGCCCTGCCCTGCCCTGCCCTGCCCTGCCCTGCCCTGCCCTGCCCCGACCACCCCTGCCCCCCCC	1500 1560 1620 1680
	TAGTOTGGAGGAGGGGCTGCAGCAGATCCGGGAGGATGAAGAAGAGGGGGTCTGACCAGGGCCCTGGCCTGCGCTGCAGGGTCTGAGGGGGTCTGAGACCACCTGGCTGCAGGGTCCAGGGTCCTGAGACCACCAGGTCCAGGGTCCAGGGTCCAGGGTCCAGGGTCCAGGGTCCAGGGTCCAGGGTCCAGGGTCCAGGGTCCAGGGTCCAGGGTCCAGGGTCCAGGGTCCAGGGTCCAGGGTCCAGGGTCCAGGGTCAAGACCAAGCAAG	1500 1560 1620 1680 1740
	TAGTOTGGAGGAGGGGCTGCAGCAGATCCGGGGGGGGGGG	1500 1560 1620 1680 1740 1800
	TAGTOTGGAGGAGGGGCTGCAGCAGATCCGGGAGGATGAAGAAGAGGGGGTCTGACCAGGGCCCTGGGGGAGGACGGGTCTGAGGAGGGGGTCTGAGGAGGGGGTCTGAGGAGGGGTCTGAGGAGGCAGGTCCGGGAGGAGCAGCTGCTGAGAGCACCACCAAGAGAGAG	1500 1560 1620 1680 1740 1800 1860 1920 1980
	TAGTOTGGAGGAGGGGCTGCAGCAGATCCGGGAGGATGAAGAAAGGGGGTCTGACCAGGGGCCCGAGGGAGG	1500 1560 1620 1680 1740 1800 1860 1920 1980 2040
	TAGTOTGGAGGAGGGGCTGCAGCAGATCCGGGAGGATGAAGAAAGGGGGTCTGAGCAGGGGCTCTGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGGGGTCTGAGGAGGGGTCTGAGGAGGAGGGGTCTGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG	1500 1560 1620 1680 1740 1800 1860 1920 1980 2040 2100
	TAGTOTGGAGGAGGGGCTGCAGCAGATCCGGGAGGATGAAGAAAGGGGGTCTGAGCAGGGGCTCTGAGGAGGGGGTCTGAGGAGGGGTCTGAGGAGGGGTCTGAGGAGGGGTCTGAGGAGGGGTCTGAGGAGGAGGAGGGGTCTGAGAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGA	1500 1560 1620 1680 1740 1800 1860 1920 1980 2040 2100 2160
	TAGTOTGGAGGAGGGGCTGCAGCAGATCCGGGAGGATGAAGAAAGGGGGTCTGACCAGGGGCCTGAGGAGGAGCGGTCTGAGGAGGGGTCTGAGGAGGGGTCTGAGGAGGGGTCTGAGGAGGGGTCTGAGGAGGGGTCTGAGGAGGGAG	1500 1560 1620 1680 1740 1800 1980 2040 2100 2160 2220
	TAGTOTGAAGGAGGGCTGCAGCAGATCCGGGAGGATGAAGAAGAGGGGTCTCAACAC GGCCCTGACCTCACCGGATCCAGCACCGGTCCAGCACCCCCTGCCCTCCCAGGGTCCTCAACAC CAGCTATGAACAGGACCCACAAACCATTTTGGACGACCACCACGGTCCTCAACAC CCCCGGCTGTCAATCCCCTGGTGGGGTCATACCCCTTCTTTCGACCTGGGGCACCA CCCCCGGTGGCTGCCTCCTTGGAGGCAAGAGCTTCCTGACCAAACAAGACGAC GACCACCAGGACCACCACCACCACCACGACGCGTCCCCAAGACCAAGAGAGAC GAAGCAGGTTCACCACCACCACCACGACGCGGTCCCCAAGACCAAGAGAGAC CCAGGAGGTCACACACAAGAGATCCCCTCCTCTGTCCTGGGGGAACAGATTATTATTG CTACTCCAAATGCAAAAAACCACCACGAAGGCCCCCTGCCTG	1500 1560 1620 1680 1740 1800 1980 2040 2100 2160 2220 2280
	TAGTOTGGAGGAGGGGCTGCAGCAGATCCGGGAGGATGAAGAAAGGGGGTCTGAGCAGGGGCTCTGAGGAGGGGGTCTGAGGAGGGGTCTGAGGAGGGGTCTGAGGAGGGGTCTGAGGAGGGTCTGAGGAGGAGGAGGAGGGTCTGAAGACCAGCTATGGAGGAGGAGGAGAGAGA	1500 1560 1620 1680 1740 1800 1980 2040 2100 2160 2220 2280 2340
	TAGTOTGGAGGAGGGGCTGCAGCAGATCCGGGAGGATGAAGAAAGGGGGTCTGAGCAGGGGCTCTGAGGAGGGGTCTGAGGAGGGGTCTGAGGAGGGGTCTGAGGAGGGGTCTGAGGAGGGGTCTGAGGAGGGTCTGAGGAGGGTCTGAGAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGA	1500 1560 1620 1680 1740 1800 1980 2040 2160 2220 2280 2340 2400
	TAGTOTGGAGGAGGGGCTGCAGCAGATCCGGGAGGATGAAGAAAGGGGGTCTGACCAGGGGCCTGGCCTGCGCGGGGGACCAGCGGGGGGGG	1500 1560 1620 1680 1740 1800 1980 2040 2100 2160 2220 2280 2340 2460
	TAGTOTGGAGGAGGAGGAGCAGCAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGGGGG	1500 1560 1620 1680 1740 1800 1980 2040 2160 2220 2280 2340 2460 2520
	TAGTOTGGAGGAGGGGCTGCAGCAGATCCGGGAGGATGAAGAAGAGGGGTCTGAGCAGGGCCTGGAGGTCTGAGGAGCCCTGGCCTCCAGGAGCCCTGGCCTCCAGGAGCCCCTGGCCTCCAGGACCAGGCCCTGGAGCAGCCCCTGGAGCAGCCACCAAACCATTTTGGACGACCACCACCACCACCACCACCACCACCACCACCAC	1500 1560 1620 1680 1740 1800 1980 2040 2100 2220 2280 2340 2460 2520 2580
	TAGTCTGGAGGAGGGCTGCAGCAGATCCGGGAGGATGAAGAAAGGGGGTCTGAGCAGGGCCCTGGCCTGCGGAGGACCCCTGGCCTCCAGGACCAGCTGTAGACCAGCTCTCAAGACCACCAGCTATTTTGGACGACCACCACCTGCTCCAAGACCACCACCAAACCATTTTTGGACGACCACGGTCCGCGGACCACCAGCTGTCAATCCCCTGGGTGGAGCAAGAGCTTCCTGGAGCAAGCA	1500 1560 1620 1680 1740 1800 1980 2040 2100 2160 2220 2460 2520 2580 2640
	CACCTGAGGACCACCACACACCACCACCACCACCACCACCACCAC	1500 1560 1620 1680 1740 1800 1980 2040 2160 2220 2340 2460 2520 2580 2640 2700
•	TAGTETGAAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG	1500 1560 1620 1680 1740 1800 1980 2040 2160 2220 2280 2340 2460 2520 2520 2580 2700 2760
	TAGTETGAAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG	1500 1560 1620 1680 1740 1800 1980 2040 2160 2220 2280 2340 2460 2520 2520 2580 2700 2760
	CACCTGAGGACCACCACACACCACCACCACCACCACCACCACCAC	1500 1560 1620 1680 1740 1800 1980 2040 2160 2220 2280 2340 2460 2520 2520 2580 2700 2760

#### 3/5

PAS AND AND AGO GOO GIRD THA GIRD ACT CIRC CIT CCA GAT GOO AGO AGO AGO THE CGO  $(V_{i})_{i}(L_{i})\otimes V_{i}=T_{i}\otimes L_{i}\otimes T_{i}\otimes P_{i}\otimes E_{i}$ SAG GAY GOT CUC COD COY COR GTT COO GGA GAA GAA GGG GAG ACC COA COG TOT CAG COT E E ઃ PRPP HOT GTO GSC AND TO CASS THE ACC AND COL AIR COL GTT THE TOT NAT HET HAR COL ANT F 9 M مت IN THE TUTE THE MAN MOTE THE HERE BET GAS THE BAT GET GOA MAD CHE HER COSE ACT THE 1 H S L L G D Q D G A Y OTO GAR AUL 386 AAA TOT UTO GAT ACG STO GAS TTO TGG TTT GOT TOT AAT GGG TTC AGG FERSON DITUD F W F DAY ACTURANT OTTO NAGROUND ROCK AND ACTUITTS OGNIGTE SECURDAD GEN ATTUITAT AND AGG THE R D T K T L R V NTT SAC AAC NOT GIT GITC TOO BAG CAG CITG AAG CCC GCC AAG ACC TAC ACA CGA K O L K F A T SAT GOO ATC AAS AAG CAA CAG ATC GGC TCG GTC ATG TTT GAC CAG GCA CAG ACC GAG ATC D G I K K O O I G S V M F D Q A Q T E I TAG GUA GUG ATG GAG GAA AAT GCC TAC CAG GTG TTC TTG ACT TCT GAC ATT TAC CTG GAA V E E N A Y Q THE CITY AND ACT NOT GOOD THA AAC ACA GCT TAC ATG AGT HAC GGG GGA CTG GGG AGC CTA THE STOUTCH TON UNIT WHEN THE CITE COC ACCUTTE ART GIR GRA GRO GRO TOG ACCUTE GOO GRO t p T L N E E E TTO RAIG THE RAR OTH TICK COC ACC GTG GTT GGC TTG TCC AGC ANA ACT CTT CGG GCC ACC K T L B A T G I, S S T 9 BUB AGT STO AGE TOU ACG GRANACA GOT GAA AAC SGA TTO AGG TOO TTO ARG AGA AGO GRO THE TARM GFRSFKRS THE UPO RAT OUT THE CAT GEN GOT FOC GOD THE GET THE GON CON GOD ACC AGO GOD AAC S G Y V F A P A N P Y H V G THE AGE THE TIE AND HER THE GREAT GREAT TO BE SEEN AND THE STATE THE ATTEMPT AND GREAT HER THE STATE AND THE STATE AND THE STATE STATE AND THE STATE AND THE STATE STATE AND THE STATE A WIN GAT DEF UTTO BOT THE COC ATT GGG AGT RAG ARA CAG CTC CAG AGA GAG ATT CAT V D D D V P P Y R M G S K K Q L Q R E M H THE RET STIP AND THE BASE GOOD CAN GIVE THE COT CAT THE COG AGA AND CHE COSC CITY K A N G Q V S L P H F P R T H R L CONTINUE THE ATT ACT OF GTE GAA COT GCT GCC TTC GCC GCC GAG CTC ATC TCC, AGG CTG THE FREE TO SEE THE PART AND A BULL IN SEEL I THE HAR STO LER CTG GAR STG GAR AGO CGG CAT ACT STG GAG GAG CGG CTG CAG CAG MTC LEVAN A K LEE LE E S R H S L E E P L Q Q THE GAR GAT CAN GAR AND GAG GGG TOT GAG CAG GCC CTG AGE TOA CGG GAT GGA GCA CCG EDEREGSEOALSSRDGA THE CASE CAC COO CITS SOO CITS CON TOO GOO AGO TAT GAA GAG GAD COA CAA ACC ATT. OHPLALL PSGSYEEDFOTI THE GAC GAC CAR CITE THE AGG OTO CITE AAG ACC COE GGC TOT CAA TOO COT GGT GIG GGT I D D H L S B V L K T P G C D S P G V G

UNN



4/5

THE THE ARE LICA OGG TOO EGG TUE OTE GAD CAD CAD CAD CAD CAD GAD GAD CAT CAG CAG S P D H H H Q H H H H P P 5 P THAT LAST HOR SITT STOP ACT GOD GRO ARG CTG CCC CTC GCT GCT TOC CCC.CTC CTT SCALARD RAS AGO STY OTO ALC ARA CAG AGG AGG RAG CAC GYT CAC CAG CAC TAC ATC CAC DAN TA THU STATE OF WARD ACT MANGEMENT LANGE BASE GOALGRAPHON ACT WILL AGREET COCK. THE STEET THE TOT THE GUY ACK GAT THE THE THE THE THE THE AGA THE MAN AGE CAN HER AGE GET COA, SAU COU OTS COT GGG TAG CAG TIT TOT GGC AGG AGA GGT GGT ACC TTG COA AAA g R G G T G E O F C G CONTRACT DON MAS USE ACC GNA CCG GGT CTT GCA CTG TCG GCC AGG GAT GGA GGG ATG TCC TEPGLALES A HOT SUR 105 363 360 COO TAB COT COT GGG GAA GAA GGA GAC CGG TOA CAG GAT GTC TGG PQ L P C E E G D R CHE TOO ATO TTO THE AUT THE DOO CHE AGO AND TOO HAD COD CAT AGT FOR CHA AGO ATA E S E P O S K S K P H S A ASA AAG AGO TAO EGA TEG GAS TOT GOO CGT GOO CCA GGA GAA CGA GTC AGO CGG CAO 2 E S A R A A P G E R V S R H CAT THE TIE GOO GOO AND EGA CAD TOO CGC TOA GIG GOO CGG GOT CAC OCA TIT ACC CAG H S R S V F R A H F F T Q GAC LOT BURNETS COT COC OTT ACC CCA CCC AAC ACT TOB GCA CAG CTA GAG GAA GCC TGC CON ALSO CTG GOA GAG GTG TOG AAG COC CAS AAG CAG CGG TGC TGC GTG GCC AGT CAG CAG Q A C C V A Q AND AND AND CAR THE BOT COT GET CAG GEA GGG TEA COO THE GEE AAC COA AGE S A A G Q A G A S P F TTO BOT BOA GAS THAT CAC ASA GAG COA RAG ARA CTG GOA AGT GTG GAC GCG CTC CAG GCC энк тркк ACT GAG ITG GET GEC ACC TAC TET TTC TGT GGA GAA GAA ATT CCA TAC ACC ACC ATG CTG ARE SOT THE AGO TTG AGO CTG GGC CAC TTC AAG GAG CAG CTC AGO AAA AAG GGA AAT TAC THE LTO AME HAD GOT AGT GAD GAA TIT GOD THE GGA GOA GIT TIT GAG GAG AFC THE ROLL STOR FRANCE TO FIGAD SAD GAG ACA STG UTC CCC ATO TAC GAA GGC AGG ATO STG CCC AAA GTG GAG AGG Y E G F I L G K V E P F M ET ATO DAG 1 DA 2 10%

gt. 🔅

ริส:ใช้

198

Abb. 4